PHYTOPATHOLOGISCH LABORATORIUM

„WILLIE COMMELIN SCHOLTEN"

BAARN

MEDEDELING No. 19

HET ONDERZOEK OVER DE POPULIERENKANKER VEROORZAAKT DOOR PSEUDOMONAS SYRINGAE V. HALL F. SP. POPULEA SABET

With a summary:

Research on bacterial poplar canker

DOOR

G. VAN DEN ENDE

OVERDRUK UIT: MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT 1957, DEEL XXII, NO. 3, 527-533

COMMONWEALTH MYCOL.

6 MAR 1959

OVERDRUK UIT MEDEDELINGEN VAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL EN DE OPZOEKINGSSTATIONS VAN DE STAAT TE GENT. 1957. DEEL XXII. N° 3

HET ONDERZOEK OVER DE POPULIERENKANKER VEROORZAAKT DOOR PSEUDOMONAS SYRINGAE V. HALL F. SP. POPULEA SABET

door

G. van den Ende

Phytopathologisch Laboratorium ,,Willie Commelin Scholten''
Baarn (Nederland)

1) De verwekker van de ziekte

In 1935 werd een begin gemaakt met het onderzoek over de populierenkanker op het Phytopathologisch Laboratorium ,,Willie Commelin Scholten'' te Baarn op initiatief van de Nederlandse Heidemaatschappij. Daar reeds eerder op dit laboratorium schimmels uit kankers geisoleerd waren, werden deze aanvankelijk bij het onderzoek betrokken. Inoculatie-proeven werden verricht met *Nectria coccinea*, *N. galligena* en *Botryodiplodia penzigii*. Met deze schimmels konden inderdaad ziektesymptomen verkregen worden. Er ontstonden op de inoculatieplekken open wonden omgeven door een gladde callusrand, die door Koning (1937) schimmelkankers genoemd werden. De inoculaties, die in de herfst verricht werden, gaven de beste resultaten.

Intussen vond zij echter op *P. brabantica* Houtz. slijm, dat door spleetjes en openingen in de schors naar buiten kwam. Dit slijm bleek verschillende soorten bacteriën te bevatten. Bij inoculatie van dit ruwe slijm in een vatbare boom werden de symptomen verkregen, zoals deze in de natuur gevonden worden, namelijk zich steeds uitbreidende kankers met zeer onregelmatige callusranden. De inoculaties moesten verricht worden tussen half april en half juni wilden zij enige positieve resultaten opleveren.

Ook was Koning (1937 en 1941) in staat een bacterie uit dit slijm te isoleren, die sterk ziekteverwekkende eigenschappen voor de populier bleek te bezitten. Zij noemde de bacterie *Pseudomonas rimaefaciens* Kon. De symptomen, die hiermee ontstonden, duidde zij aan met ,,Rimaefacienskankers''. Zij kwamen echter niet overeen met de kankers veroorzaakt door het ruwe slijm, doch veeleer met de zgn. schimmelkankers, daar ook hierbij de wond met een gladde rand omzoomd werd. Een verschil tussen de ,,Rimaefacienskankers'' en de schimmelkankers was gelegen in

de tijd gunstig voor inoculatie en de optredende symptomen. De inoculaties met *Ps. rimaefaciens* sloegen alleen aan als zij in het voorjaar verricht werden. Een snel afsterven van de jonge twijgjes boven de inoculatieplek was het gevolg, terwijl dit bij de schimmelkankers nooit gevonden werd. De ontstane wonde, ten gevolge van de inoculaties met deze bacterie, breidden zich echter nimmer uit in de volgende jaren.

In 1946 isoleerde Lansade (1946) uit het slijm een bacterie, die hij *Pseudomonas syringae* v. Hall noemde. Hij was echter evenmin in staat door inoculatie met deze bacterie de symptomen op te wekken, zoals zij in de natuur gevonden worden. Dit weet hij aan de weersomstandigheden gedurende de winter volgend op de inoculatie.

Sabet c. s. (1952 en 1953) isoleerde uit het ruwe slijm een bacterie, die hij *Pseudomonas syringae* v. Hall *f. sp. populea* noemde, daar hij een verschil in pathogeniteit kon aantonen tussen de verwekker van de populierenkanker en de ziekteverwekker, die het afsterven van de knoppen bij de sering te weeg brengt. Inoculaties met reincultures van deze bacterie gaven ook slechts symptomen, die zich niet verder ontwikkelden. Een suspensie van de reincultuur in steriel slijmfiltraat gaf echter na inoculatie blijvende symptomen, die overeenkwamen met die van in de natuur gevonden kankers.

In 1952 werden te Baarn nogmaals vier bacteriestammen uit *Populus tremula gigas* geïsoleerd, die sterk pathogeen voor de populier bleken te zijn. Inoculaties hiermee verricht in de kas op bewortelde stek van *Populus brabantica* had een verwelken van de jonge twijgen ten gevolge. De bladsteel en bladnerven werden zwart, waarna het blad verwelkte en afstierf. Na drie dagen werden reeds aangetaste bladeren 25 cm boven de inoculatieplek gevonden. Injecties van twee- en driejarige takken van jonge bomen gaven steeds na 10 — 14 dagen een afsterven van de jonge twijg boven de inoculatieplaats. Op het hout ontstond een open wonde van 2 — 9 cm lengte, die echter steeds heelde of in geen geval zich uitbreidde in de volgende jaren. Determinatie van deze bacteriestammen toonde practisch geen verschillen aan tussen deze bacterie en *Ps. syringae f. sp. populea* geïsoleerd door Sabet. Elk van deze bacteriestammen tesamen geinoculeerd met steriel slijmfiltraat gaven echter wel de vorming van typische kankers. Het steriele slijm alleen gaf, na injectie in de boom, slechts een geringe toxische werking op de plaats van inoculatie. Het slijm bestaat voor het grootste gedeelte uit koolhydraten, bovendien werden er enige aminozuren in aangetoond o.a. asparaginezuur. De rol van het slijm is nog onbekend. Het verband tussen de kankerverwekkende bacterie en het slijm dienen nader onderzocht te worden. De bacteriestammen konden niet langer dan twaalf maanden in reincultuur gehouden worden. Er zal nog naar een andere kweekmethode voor de bacterie gezocht moeten worden.

2) **Toetsing van het aanwezige Populierensortiment**

Aangezien de bacteriekankers, zoals deze veroorzaakt worden door het ruwe slijm, het meest te velde voorkomende kankertype is, werd het aanwezige populierensortiment op zijn vatbaarheid getoetst door middel van dit ruwe slijm. Stukjes schors met wat slijm werden in water gebracht, zodat er een bacteriesuspensie ontstond. Deze suspensie werd tussen half april en half juni in de stam of een tak van de te onderzoeken boom gespoten. Het controleren van de inoculaties vond aanvankelijk plaats in de herfst van hetzelfde jaar. De resultaten die uit deze proeven verkregen werden, waren nogal verrassend. *P. marilandica, P. serotina* en *P. deltoides missouriensis* werden na inoculatie soms vrij sterk aangetast, ofschoon ze in de practijk vrij bleven van de bacteriekanker. *P. gelrica, P. serotina erecta* en *P. nigra italica* waren resistent. Bovendien bleken de resultaten in achtereenvolgende jaren sterk te verschillen.

3) **Toetsing van kunstmatig verkregen kruisingsproducten**

Vanaf 1944 werden naast ingevoerde populierensoorten en -variëteiten ook kunstmatig verkregen kruisingsproducten op hun vatbaarheid onderzocht. De eerste kruisingen werden verricht op het Laboratorium voor Erfelijkheidsleer te Wageningen. De kruisingen met *P. nigra, P. nigra italica* en *P. marilandica* leverden de beste resultaten op. Zodra echter *P. trichocarpa* als een der ouders optrad, was de vatbaarheid der nakomelingen zeer groot. Later ging het kruisingswerk over naar het Bosbouw Proefstation TNO. Vele kruisingen van dit Proefstation afkomstig werden op hun vatbaarheid onderzocht. Ook deze resultaten bevestigen dat de kruisingen met *P. nigra* of *P. nigra italica* het hoogste percentage resistente zaailingen opleveren. (Brink 1949; Brink en v. d. Ende 1951; v. d. Ende 1953, 1955 en 1957).

4) **De invloed van de uitwendige omstandigheden op de ontwikkeling van de ziekte**

Daar de resultaten van de inoculaties per jaar zo verschilden, werd in de laatste tijd aandacht besteed aan de omstandigheden waaronder de inoculaties plaats vonden. In sommige jaren bleek dat bij een lage temperatuur in de maand december een geringere aantasting optrad dan bij een hogere temperatuur in die maand. Of de weersomstandigheden tijdens de inoculatie van invloed zijn valt nog niet met zekerheid te zeggen. Wel lieten de resultaten van de inoculaties, verricht in de droge zomer van 1947 op zich wachten totdat de omstandigheden veranderd waren. Om de invloed van temperatuur en vochtigheid op het optreden van de aantasting te kunnen nagaan, zullen inoculaties verricht moeten worden onder zoveel mogelijk geconditioneerde omstandigheden.

Daar het ruwe slijm jaarlijks opnieuw verzameld wordt, om met vers slijm de inoculaties te kunnen verrichten, bestaat de mogelijkheid dat ook door variatie in kwaliteit van het slijm verschillen in de resultaten ontstaan. Er dient daarom naar gestreefd te worden dat het inoculum, dat in de verschillende jaren voor inoculatie gebruikt wordt, zo uniform mogelijk is.

5) De beoordeling van de inoculaties in verband met de vatbaarheid van de boom

Sommige zaailingen schijnen met de toename der leeftijd vatbaarder, andere juist resistenter te worden. De tijd verstreken tussen de inoculatie en het controleren ervan is van grote invloed op de beoordeling van de vatbaarheid van de zaailing. Nu rijst natuurlijk direct de vraag, wanneer moeten wij nu een boom als vatbaar beschouwen? Een soort waarbij blijkt dat de aantasting steeds sterker wordt ten gevolge van een inoculatie, kunnen we zeker als vatbaar beschouwen. Dit ziet men dan ook bij bepaalde soorten en hybriden, die dus geen twijfel laten omtrent hun vatbaarheid. Deze sterke ontwikkeling van het ziekteproces in de loop van de jaren, zien we bij *P. brabantica* en *P. candicans*, twee zeer vatbare soorten. Bij *P. brabantica* trad de kankervorming al in het jaar van inoculatie op en deze ontwikkelde zich verder met slijmvorming. Een boom die na een, twee of drie jaar in staat is de parasiet te overwinnen en de wonde te helen, moeten we tot de veldresistente soorten rekenen. Zo trad bij *P. gelrica* en *P. serotina erecta* in het eerste jaar na de inoculatie een begin van kankervorming op, maar deze overgroeide weer in het tweede jaar. Wij mogen aan deze gegevens nog geen al te grote waarde hechten, maar het blijkt op grond van dergelijke reacties noodzakelijk het ziekteproces langer en nauwkeuriger te vervolgen, zo mogelijk onder gecontroleerde omstandigheden.

Aangezien de resistentie van een zaailing niet in één jaar kan worden vastgesteld, is het beter de kruisingsproducten eerst op hun groei- en andere eigenschappen te beoordelen. Daarna kan dan van de meest belovende een aantal stekken genomen worden, die vervolgens op hun vatbaarheid getoetst moeten worden. Dit heeft tevens het voordeel dat deze voordien reeds aan een natuurlijke infectie blootgesteld zijn.

SAMENVATTING

Een overzicht wordt gegeven over het onderzoek naar de populierenkanker verricht sinds 1935. De ziekte wordt veroorzaakt door een bacterie *Pseudomonas syringae* v. Hall *f. sp. populea* Sabet. Inoculaties met reincultures van de bacterie geven niet dezelfde symptomen als een natuurlijke infectie te weeg brengt. Een suspensie van de bacterie in steriel slijm geeft na inoculatie wel dezelfde symptomen.

Met de gebruikte inoculatie-methode, d.i. injectie van ruw slijm in stam of takken van de boom, werden in achtereenvolgende jaren wisselende resultaten verkregen. Zelfs veldresistente bomen waren in sommige jaren vatbaar of matig vatbaar. Waarschijnlijk zijn de weersomstandigheden van invloed op het resultaat van de inoculaties, bij voorbeeld de temperatuur in de maand December volgend op de inoculatie.

Ook de tijd verlopen tussen de inoculatie en het controleren daarvan is van belang bij de beoordeling van de aard van de resistentie.

Bij kunstmatige kruisingsproducten vertoont het nageslacht van sommige ouders, o. a. *P. nigra* en *P. nigra italica*, altijd een hoog percentage resistente zaailingen.

Gezien de vele aspecten van dit probleem is een nauwe samenwerking zeer wenselijk tussen alle onderzoekers, die zich met deze problemen bezig houden.

SUMMARY

Research on bacterial poplar canker

A survey is given of the research on poplar canker performed since 1935. The disease is caused by the bacterium *Pseudomonas syringae* v. Hall *f. sp. populea* Sabet. Inoculations with pure cultures do not cause cankers with the same symptoms as they occur in nature.

With the inoculation method in use, i. e. injection of rough slime into the stem or branches, varying results were obtained in different years. Even field resistent trees showed themselves susceptible or moderately susceptible in some years.

Probably climatic factors are of influence on the result of inoculations, e. g. the temperature in December.

Also the time of assessment of the results is very important for obtaining reliable figures. Some poplars, e. g. *P. brabantica* showed cankers increasing in size during the years following

inoculation, others e. g. *P. serotina* only showed symptoms in the first year after inoculation.

Some parents e.g. *P. nigra* and *P. nigra italica* always show a high number of resistant seedlings in their progeny.

LITERATUUR

BRINK, G. — 1949. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1947. *Meded. Ned. Heidemij* 8, 1-10.

BRINK, G. & VAN DEN ENDE, G. — 1951. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1948 en 1949. *Meded. Ned. Heidemij* 13, 1-15.

VAN DEN ENDE, G. — 1953. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1950 en 1951. *Meded. Ned. Heidemij* 16, 1-19.

VAN DEN ENDE, G. — 1955. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker in 1952 en 1953. *Meded. Ned. Heidemij* 21, 1-19.

VAN DEN ENDE, G. — 1957. Het onderzoek naar de populierenkanker veroorzaakt door Pseudomonas syringae f. sp. populea. *Ned. Boschb. Tijdschr.* 29, 101-109.

KONING, H. C. — 1937. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker 1936 en 1937. *Tijdschr. Ned. Heidemij* 49, 445-449.

KONING, H. C. — 1941. Verslag van het onderzoek naar de populierenkanker 1940-1941. *Tijdschr. Ned. Heidemij* 53, 393-399.

LANSADE, M. — 1946. Recherches sur le chancre du peuplier. *Ann. Epiphyties XII*, 23-39.

SABET, K. A. & DOWSON, W. J. — 1952. Studies in the bacterial die-back and canker disease on poplar. *Ann. Appl. Biol.* 39, 609-616.

SABET, K. A. — 1953. Studies in the bacterial die-back and canker disease on poplar. *Proc. Soc. Appl. Bact.* 16, 54-55.

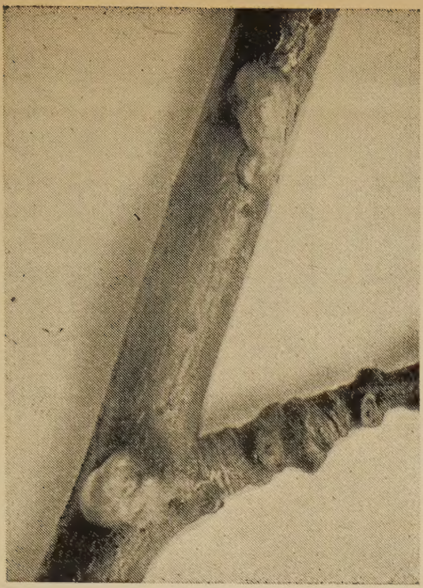

Fig. 1 en 2. — Slijmpropjes op Populus tremula L. verzameld in de duinen bij Castricum (N. H.).
Bacterial exudate on Populus tremula L. gathered in the dunes near Castricum (N. H.).

Fig. 3. — Kanker veroorzaakt door inoculatie van ruw slijm in P. candicans Ait.
Foto genomen ongeveer anderhalf jaar na de inoculatie.
Canker caused by inoculation of rough slime in P. candicans Ait.
Picture made about one and a half year after inoculation.

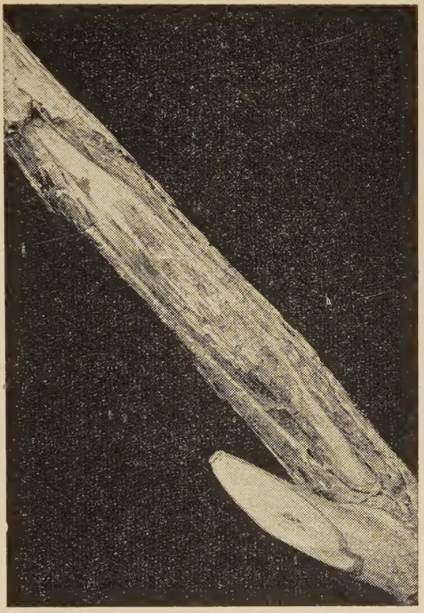

Fig. 4. — Tak van P. brabantica Houtz. geinoculeerd met een reincultuur van de bacterie.
Foto genomen ongeveer anderhalf jaar na de inoculatie.
Branch of P. brabantica Houtz. inoculated with a pure culture of the bacterium.
Picture made about one and a half year after inoculation.